Лекція: Генетика та селекція мікроорганізмів
Дисципліна: «Сільськогосподарська мікробіологія»
Спеціальність: «Агрономія»

План

1. Спадковість.
2. Спадкова мінливість.
3. Організація генетичного апарату.
4. Модифікації, мутації, рекомбінації.
5. Молекулярні основи мутацій.
6. Мутагенні фактори.
7. Генетичні рекомбінації у прокаріот.
8. Практичне використання генетики мікроорганізмів і генної інженерії в народному господарстві.

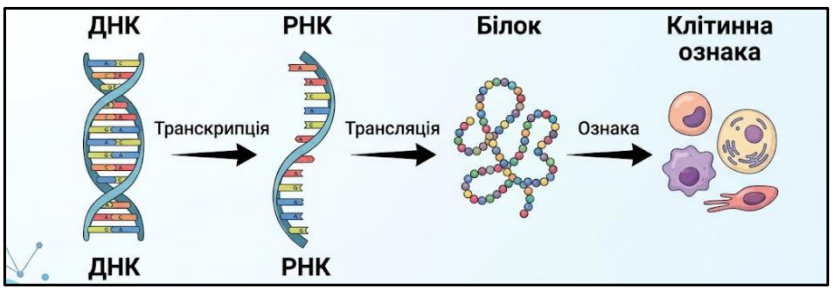
Мікроорганізми швидко розмножуються й заселяють різноманітні середовища. Їхні спадкові властивості визначають здатність засвоювати поживні речовини, утворювати корисні або шкідливі метаболіти, взаємодіяти з рослинами й витримувати стресові умови.
У мікробіології важливо розрізняти:

- **генотип** — сукупність спадкової інформації клітини;
- **фенотип** — властивості, що проявляються в конкретних умовах;
- **штам** — генетично й фізіологічно охарактеризована культура мікроорганізму, зазвичай отримана з певного ізоляту.

Однаковий генотип може давати різний фенотип залежно від температури, живлення, кислотності, вологості та інших умов. Водночас зміна умов сама по собі не обов'язково змінює генотип.

1. Спадковість

Спадковість — здатність організмів зберігати й передавати свої ознаки нащадкам. Матеріальною основою спадковості є ДНК, послідовність нуклеотидів якої містить інформацію про синтез РНК і білків.



У спрощеному вигляді передавання інформації відбувається так:
ДНК → РНК → білок → клітинна ознака

Гени можуть кодувати білки, функціональні РНК або регуляторні елементи, що впливають на активність інших генів. Спадковими ознаками мікроорганізмів можуть бути:

- здатність засвоювати певний субстрат;
- утворення ферменту чи пігменту;
- стійкість до певного стресу;
- утворення бульбочок або ефективність симбіозу;
- здатність продукувати антимікробну сполуку;
- вірулентність або здатність спричиняти хворобу.

Під час поділу клітини ДНК копіюється й передається дочірнім клітинам. Якщо послідовність ДНК зберігається, нащадки зазвичай успадковують відповідні генетичні ознаки. Проте копіювання не є абсолютно безпомилковим, а бактерії можуть отримувати генетичний матеріал від інших клітин.

2. Спадкова мінливість

Мінливість — здатність організмів набувати відмінностей. Вона буває неспадковою та спадковою.

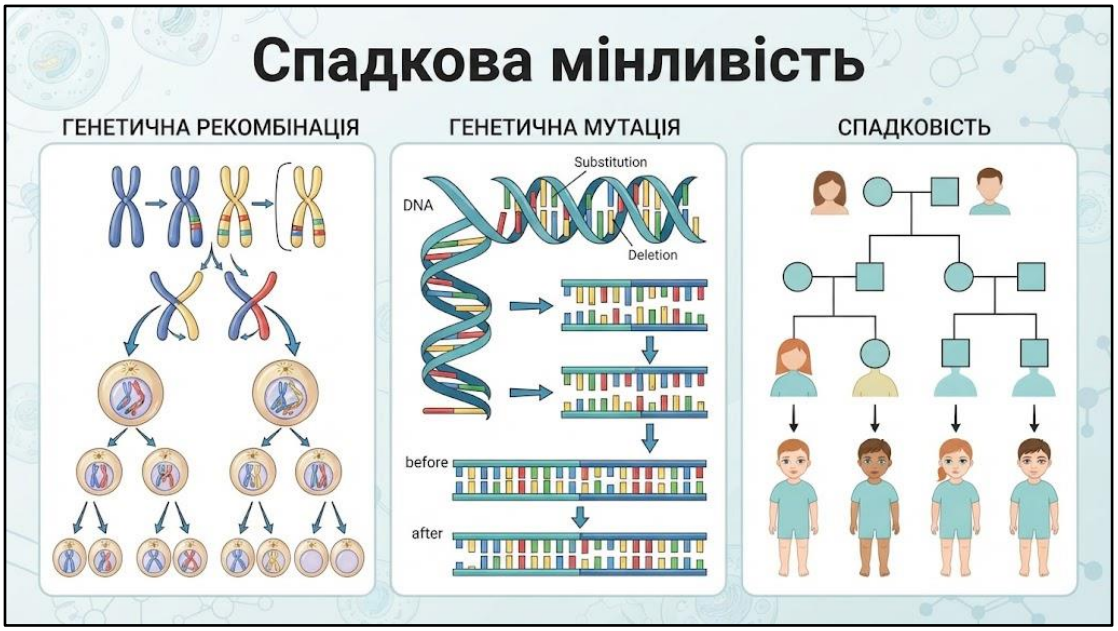
Неспадкова мінливість

Виникає внаслідок впливу середовища й змінює прояв ознаки, але не послідовність ДНК. Наприклад, кількість пігменту або швидкість росту можуть змінюватися залежно від живильного середовища й температури. Така зміна зазвичай не передається як нова генетична властивість.

Спадкова мінливість

Зумовлена змінами генетичного матеріалу або надходженням генів від інших клітин. Основні джерела:

- **мутації** — зміни послідовності ДНК;
- **генетична рекомбінація** — утворення нових комбінацій генетичного матеріалу;
- **горизонтальне перенесення генів** — надходження ДНК від іншого організму, не лише від клітини-попередника.



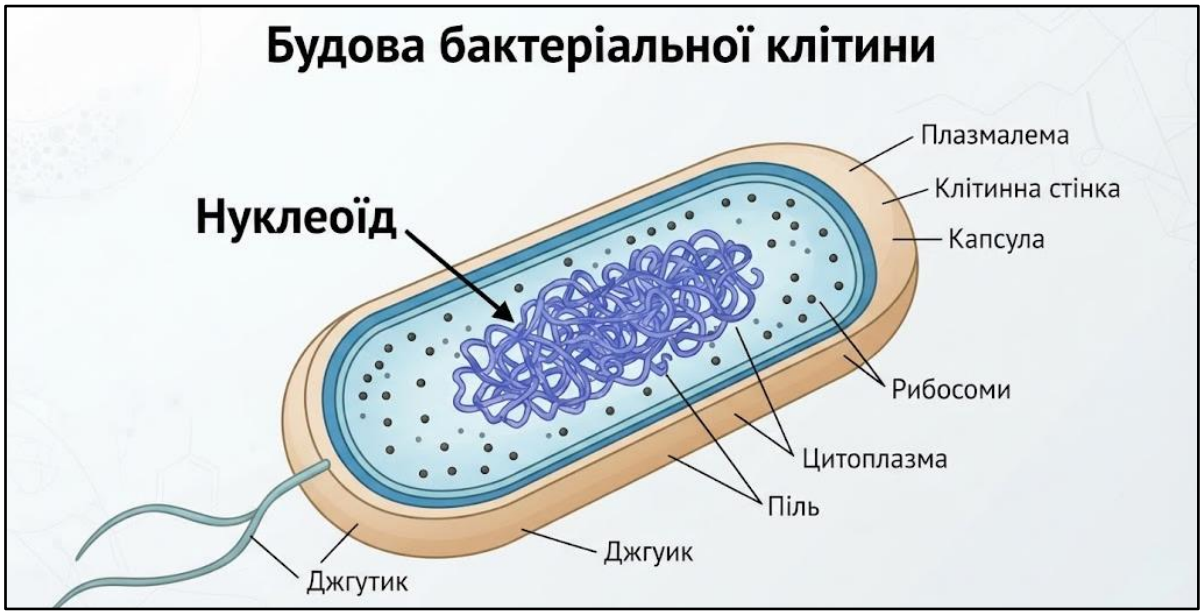
Мінливість є матеріалом для природного добору й штучної селекції. Якщо нова ознака допомагає мікроорганізму виживати або розмножуватися за певних умов, її носії можуть збільшувати свою частку в популяції.

3. Організація генетичного апарату

Хромосома

У більшості бактерій основний генетичний матеріал міститься в одній хромосомі, зазвичай кільцевій молекулі ДНК. Вона розташована в ділянці цитоплазми, яку називають **нуклеоїдом**. Це не ядро, оточене мембраною.

У бактерій зазвичай немає двох копій кожного гена, як у багатьох диплоїдних еукаріотів. Тому мутація в гені може швидко проявитися у фенотипі, якщо її ефект не компенсується іншими генами.

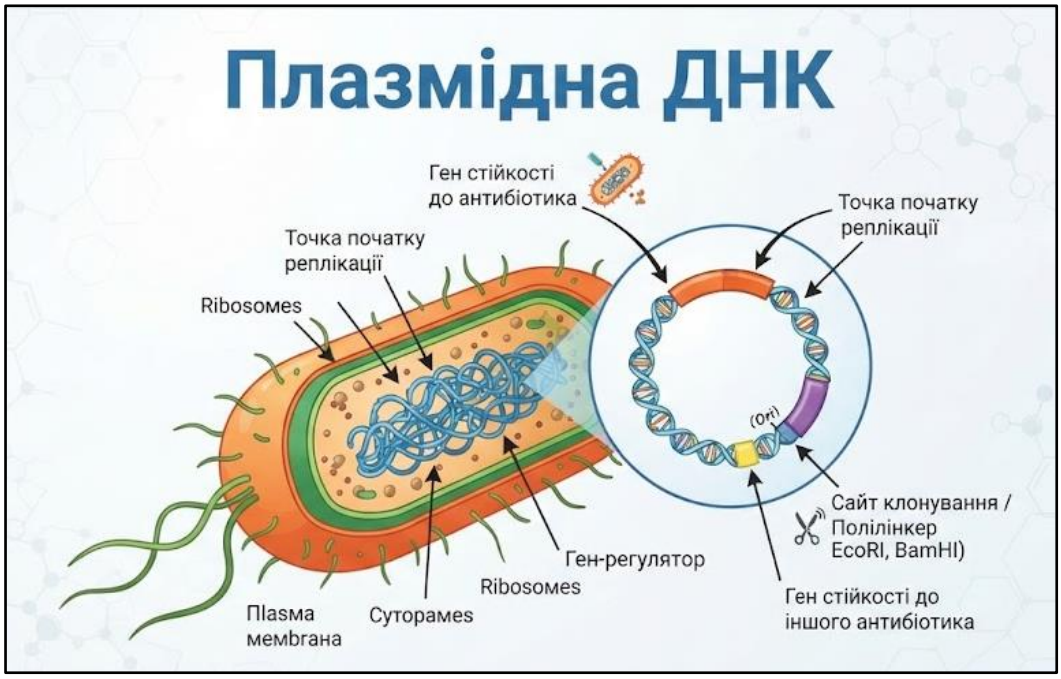


Плазміди

Плазміди — окремі молекули ДНК, які можуть копіюватися незалежно від основної хромосоми. Вони часто несуть гени, що дають додаткові властивості, наприклад:

- стійкість до певних сполук;
- здатність засвоювати незвичні субстрати;
- утворення окремих факторів взаємодії з іншими організмами.

Плазміди можуть передаватися між бактеріями, але не кожна плазміда є здатною до самостійного перенесення.



Інші генетичні елементи

- **Транспозони** — рухомі ділянки ДНК, які можуть змінювати місце розташування в генетичному матеріалі.
- **Інтегрони** — генетичні системи, що можуть захоплювати й експресувати певні генні касети.
- **Бактеріофаги** — віруси бактерій; їхній генетичний матеріал у деяких випадках інтегрується в бактеріальну ДНК або сприяє перенесенню генів між клітинами.

Регуляція генів

Не всі гени активні постійно. Клітина регулює їхню експресію відповідно до умов середовища. Наприклад, бактерія може активувати ферменти для використання певної поживної речовини лише тоді, коли вона доступна. Регуляція допомагає економити ресурси й пристосовуватися до змін.

4. Модифікації, мутації, рекомбінації

Ці поняття описують різні типи змін.

Тип зміни	Що змінюється	Чи зазвичай передається нащадкам?
Модифікація	Прояв ознаки під впливом середовища	Ні, якщо ДНК не змінилася
Мутація	Послідовність ДНК	Так, якщо зміна зберігається під час копіювання
Рекомбінація	Комбінація генетичного матеріалу	Так, якщо нова комбінація збережена в клітині

Модифікації

Модифікації — це фенотипові зміни, спричинені умовами середовища. Наприклад, змінена температура або склад поживного середовища можуть вплинути на швидкість росту. Після повернення до початкових умов ознака може зникнути.

Мутації

Мутація — стійка зміна генетичного матеріалу. Її наслідок може бути:

- нейтральним;
- шкідливим для клітини;
- корисним у конкретних умовах.

Мутація не «виникає тому, що організму потрібна певна ознака». Вона з’являється незалежно від її корисності, а добір впливає на те, які клітини залишають більше нащадків.

Рекомбінації

Рекомбінація — перерозподіл або обмін генетичної інформації, що створює нові комбінації генів. У прокаріотів рекомбінація може відбуватися після надходження ДНК від іншої клітини або бактеріофага.

5. Молекулярні основи мутацій

Мутація може змінити структуру гена, регуляторну ділянку або більший фрагмент хромосоми.

Основні види змін ДНК

1. **Заміна нуклеотиду.** Один нуклеотид замінюється іншим. Наслідок залежить від того, чи змінюється амінокислота в білку.
2. **Вставка або випадіння нуклеотидів.** Якщо кількість нуклеотидів не кратна трьом, може змінитися рамка зчитування гена.
3. **Велика делеція або дуплікація.** Втрачається або повторюється фрагмент ДНК.

4. **Інверсія або перестановка.** Ділянка ДНК змінює орієнтацію чи місце розташування.
5. **Мутація регуляторної ділянки.** Змінюється рівень або умови експресії гена.

Можливі наслідки для білка

- **синонімічна заміна** не змінює амінокислоту;
- **міссенс-мутація** змінює одну амінокислоту;
- **нонсенс-мутація** створює передчасний сигнал завершення синтезу білка;
- **зсув рамки зчитування** змінює подальшу послідовність амінокислот.

Навіть невелика зміна може не мати помітного ефекту, а може істотно змінити роботу ферменту чи регуляцію гена. Значення залежить від місця мутації, функції гена й умов середовища.

6. Мутагенні фактори

Мутагенні фактори — фізичні, хімічні або біологічні впливи, що підвищують імовірність пошкодження ДНК чи помилок її копіювання.

Фізичні фактори

- ультрафіолетове випромінювання;
- іонізуюче випромінювання;
- надмірна температура та інші фізичні стреси, здатні посилювати пошкодження клітинних молекул.

Хімічні фактори

Деякі хімічні речовини можуть змінювати основи ДНК, порушувати копіювання або спричиняти вставки та випадіння нуклеотидів. До таких факторів належать окремі лабораторні мутагени й промислові забруднювачі.

Біологічні фактори

- транспозони;
- бактеріофаги;
- генетичні елементи, що переміщуються в межах геному;
- продукти життєдіяльності деяких організмів, які можуть пошкоджувати ДНК.

Клітини мають системи репарації — механізми розпізнавання й виправлення частини пошкоджень. Якщо пошкодження не виправлено до копіювання ДНК, воно може закріпитися як мутація.

7. Генетичні рекомбінації у прокаріот

У бактерій спадкова інформація передається вертикально — від клітини до нащадків під час поділу — та горизонтально між клітинами. Основні механізми

горизонтального перенесення генів: **трансформація, трансдукція й кон’югація**.

Трансформація

Клітина поглинає вільну ДНК із довкілля. Якщо ДНК сумісна й зберігається або вбудовується в геном, клітина може набути нової ознаки.

Схема:

ДНК від клітини, що зруйнувалася → поглинання компетентною бактерією → збереження або інтеграція ДНК.

Трансдукція

Перенесення ДНК між бактеріями за участю бактеріофага. Під час інфікування вірус може захопити фрагмент бактеріальної ДНК і перенести його до іншої клітини.

Схема:

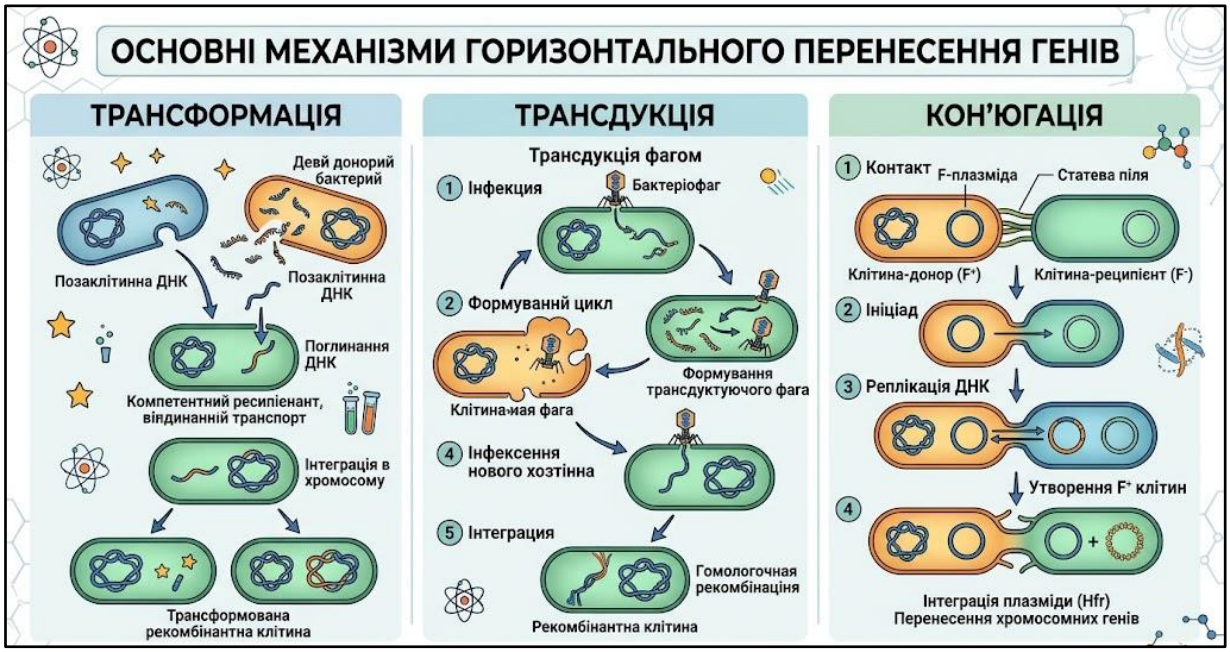
бактеріофаг інфікує бактерію → отримує бактеріальний фрагмент ДНК → переносить його до іншої бактерії.

Кон’югація

Передавання ДНК між клітинами під час безпосереднього контакту. Часто передається плазміда; у певних випадках можуть переноситися й фрагменти хромосомної ДНК.

Схема:

клітина-донор → контакт із клітиною-реципієнтом → передавання ДНК → можлива поява нової ознаки.



Порівняння механізмів

Механізм	Джерело ДНК	Як потрапляє до клітини
Трансформація	Вільна ДНК у середовищі	Поглинання клітиною
Трансдукція	ДНК, перенесена бактеріофагом	Через інфікування
Кон'югація	ДНК клітини-донора	Під час контакту клітин

Надходження ДНК не гарантує появи нової спадкової властивості. Генетичний матеріал має зберегтися й функціонувати; клітина може його зруйнувати або втратити.

8. Практичне використання генетики мікроорганізмів і генної інженерії в народному господарстві

8.1. Селекція мікроорганізмів

Мікробна селекція — відбір штамів із потрібними властивостями. У роботі використовують:

- пошук природних ізолятів із бажаною активністю;
- порівняння штамів за корисною ознакою;
- відбір варіантів, які стабільно зберігають потрібну властивість;
- мутагенез із подальшим скринінгом;
- контроль чистоти й стабільності культури.

Мутагенез може створювати різноманіття, але результат наперед не визначений: більшість змін не обов'язково буде корисною. Тому після отримання варіантів потрібен ретельний добір за цільовою властивістю. Історично мутагенез і скринінг широко використовували для поліпшення промислових штамів.

8.2. Генна інженерія

Генна інженерія — цілеспрямована зміна генетичного матеріалу за допомогою молекулярних методів. Вона може охоплювати введення, видалення або зміну генів і регуляторних елементів.

Сучасні підходи до поліпшення мікробних штамів включають:

- рекомбінантну ДНК;
- цілеспрямовану зміну генів;
- метаболічну інженерію;
- редагування геному;
- геномне секвенування для пошуку й перевірки потрібних властивостей.

На відміну від випадкового мутагенезу з добором, інженерні підходи спрямовують зміну до певної генетичної мішені. Проте отриманий штам усе одно потрібно перевірити на стабільність, ефективність і безпечність.

8.3. Аграрні напрями застосування

Генетика мікроорганізмів і мікробні препарати використовуються або досліджуються для:

- створення ефективних інокулянтів для бобових;
- підвищення здатності мікробів мобілізувати фосфор та інші поживні речовини;
- виробництва біологічних засобів захисту рослин;
- поліпшення розкладання рослинних решток і переробки органічних відходів;
- створення мікроорганізмів, що розкладають певні забруднювачі;
- одержання ферментів, амінокислот, органічних кислот та інших корисних продуктів.

FAO описує генетичну інженерію як інструмент дослідження й можливого вдосконалення мікроорганізмів, важливих для сільського господарства, зокрема для біологічного контролю патогенів.

8.4. Застосування поза сільським господарством

Мікробні штами також використовують у:

- харчовій промисловості й виробництві ферментованих продуктів;
- виробництві ферментів, органічних кислот, вітамінів та амінокислот;
- фармацевтичному виробництві;
- очищенні стічних вод і біоремедіації;
- переробці відходів.

8.5. Селекція та генна інженерія: різниця

Підхід	**Основний принцип**	**Приклад**
Селекція	Відбір уже наявних або спонтанно утворених варіантів	Пошук природного штаму з високою активністю
Мутагенез і добір	Створення випадкових змін із подальшим пошуком потрібного варіанта	Відбір культури з посиленою продукцією певного метаболіту
Генна інженерія	Цілеспрямована зміна генетичного матеріалу	Введення або редагування гена для заданої функції

8.6. Безпечність і відповідальне використання

Перед практичним використанням мікробного штаму оцінюють:

- його ідентичність і стабільність;
- здатність зберігати потрібну властивість;

- вплив на цільові й нецільові організми;
- ризик поширення генетичних елементів;
- придатність до конкретного середовища й культури;
- відповідність чинним вимогам щодо реєстрації та біобезпеки.

Ці питання особливо важливі для генетично змінених мікроорганізмів, але також стосуються й природних штамів, якщо їх масово вносять у довкілля.

Основні висновки

- Спадкова інформація мікроорганізмів закодована в ДНК, але прояв ознак залежить і від середовища.
- Спадкова мінливість виникає через мутації та рекомбінації; неспадкова модифікація змінює прояв ознаки без зміни ДНК.
- Генетичний апарат бактерії може включати хромосому, плазміди й рухомі генетичні елементи.
- У прокаріотів ДНК може передаватися через трансформацію, трансдукцію та кон’югацію.
- Селекція, мутагенез і генна інженерія дають різні шляхи отримання мікроорганізмів із корисними властивостями.
- Для агрономії важливі штами, пов’язані з азотфіксацією, мобілізацією елементів живлення, біологічним захистом і переробкою органічних речовин.
- Практичне використання штамів потребує перевірки їхньої ефективності, стабільності й безпечності.

Запитання для самоконтролю

1. Чим генотип відрізняється від фенотипу?
2. Чим модифікація відрізняється від мутації?
3. Яку роль у бактеріальній клітині можуть виконувати плазміди?
4. Які наслідки можуть мати заміни, вставки та випадіння нуклеотидів?
5. Чим відрізняються трансформація, трансдукція й кон’югація?
6. Чим селекція мікроорганізмів відрізняється від генної інженерії?
7. Які мікробні властивості мають практичне значення для агрономії?